

Medicina cardiovascular traslacional (VIII)

## Técnicas no invasivas de imagen cardiovascular en investigación básica: aplicación en la terapia celular

Wesley D. Gilson<sup>a,b</sup> y Dara L. Kraitchman<sup>b</sup><sup>a</sup>Imagen y visualización. Siemens Corporate Research, Inc. Baltimore. Maryland. Estados Unidos.<sup>b</sup>Departamento de Radiología y Ciencias Radiológicas Russell H. Morgan. Universidad Johns Hopkins. Baltimore. Maryland. Estados Unidos.

La terapia celular continúa siendo un área muy activa en el campo de la investigación básica, con resultados iniciales prometedores en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, aún existen muchos factores desconocidos en la terapia celular, entre los que se incluyen el mecanismo de acción, los tipos de células que resultan más útiles, las estrategias de administración más eficaces, así como su seguridad. La obtención de imágenes con métodos no invasivos permite utilizar una gran variedad de herramientas para valorar cuantitativamente muchos de estos factores desconocidos. En este artículo nos centramos en la ecocardiografía, la resonancia magnética, la tomografía computarizada, la tomografía por emisión de positrones y la tomografía por emisión de fotón único en el contexto de la terapia celular, para explicar la forma en que estas modalidades de imagen se están utilizando para dar respuesta a muchas de esas cuestiones.

**Palabras clave:** Células madre. Imagen por resonancia magnética. Ecocardiografía. Imágenes con radionúclidos.

### Noninvasive Cardiovascular Imaging Techniques for Basic Science Research: Application to Cellular Therapeutics

Cell therapy continues to be an active area of basic science research with early promise in the treatment of cardiovascular diseases. However, there are many unknowns including the mechanisms by which they work, the most useful cell types, the most efficient delivery strategies, and their safety. Noninvasive imaging provides a wide array of tools to quantitatively address many of these unknowns. This article reviews echocardiography, magnetic resonance imaging, computed tomography, positron emission tomography and single photon emission tomography in the context of imaging cellular therapeutics to demonstrate how these modalities are being used to answer some of these questions.

**Key words:** Stem cells. Magnetic resonance imaging. Echocardiography. Radionuclide imaging.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

Sección patrocinada por el Laboratorio Dr. Esteve

### INTRODUCCIÓN

La terapia celular ha proporcionado resultados prometedores para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. De hecho, está en curso un gran número de ensayos clínicos cuyo objetivo es lograr la revascularización, la resincronización, la recuperación funcional y la regeneración del miocardio, así como una disminución del remodelado ventricular. Resultados de los primeros ensayos clínicos<sup>1-4</sup> indican que las células progenitoras y las células madre procedentes de la médula ósea autóloga pueden mejorar la función miocárdica cuando son

administradas mediante inyección intracoronaria. Esto ha proporcionado un gran impulso para la investigación de la terapia celular en el tratamiento de las cardiopatías. Quizá la pregunta más importante que se plantea desde el punto de vista de la investigación básica sería: «¿qué mecanismos utilizan las terapias celulares para mejorar la función cardiovascular?». Los mecanismos propuestos incluyen la neovascularización (directamente o mediante la liberación de factores de crecimiento), la activación de la protección celular a través de la liberación de factores paracrinos, la movilización y activación de las células madre residentes, la supresión de la inflamación, y la diferenciación muscular<sup>5</sup>. Tan importante es aclarar los mecanismos de funcionamiento de la terapia celular como identificar los tipos de célula más eficaces, evaluar la seguridad de la terapia, comprender sus beneficios a largo plazo, averiguar la mejor forma de aplicarla, mejorar la funcionalidad del injerto celular y la supervivencia de las células y determinar la mejor forma de rastrear el destino de la terapia celular *in vivo* con el paso del tiempo.

Wesley Gilson trabaja para Siemens Corporate Research, Inc. Fuentes de financiación: National Institutes of Health, NIH R21 HL0089029, y Fondo para Investigación con Células Madre de Maryland (MD Stem Cell Research Fund), 2008-MSCRFII-0399.

Correspondencia: Dr. W. Gilson. Siemens Corporate Research, Inc. 601 N. Caroline Street, JHOC 3260. Baltimore, MD 21287-0802. Estados Unidos.

Las técnicas de imagen no invasiva pueden tener un papel importante en los estudios diseñados para responder a muchas de estas cuestiones. La ecocardiografía, la resonancia magnética (RM), la tomografía computarizada (TC), la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) ya se utilizan en la clínica para evaluar la función, la viabilidad, la perfusión y la anatomía del miocardio. La incorporación de técnicas de imagen a los experimentos de investigación básica sobre terapia celular cuenta con importantes ventajas. En principio, permite explorar *in vivo* los efectos terapéuticos en la anatomía y la fisiología, al tiempo que reduce el número de animales requeridos para llevar a cabo los experimentos. Además, permiten evaluar de forma seriada la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento y, frecuentemente, realizar mediciones cuantitativas más precisas o incluso determinaciones que serían imposibles empleando otros métodos.

El propósito de este artículo es revisar las distintas modalidades de imagen cardiovascular no invasiva en el contexto de las terapias celulares. Para cada modalidad se aporta una breve descripción de la tecnología utilizada, junto con ejemplos de su utilización para evaluar la eficacia de la terapia celular y las estrategias terapéuticas.

## ECOCARDIOGRAFÍA

La ecografía o ultrasonografía cardiaca es un método ampliamente utilizado en las clínicas cardiológicas de todo el mundo para evaluar la función y el tamaño cardiacos, la función valvular y la afección del pericardio. El principio general que subyace a la obtención de imágenes por ultrasonidos es que un transductor piezoeléctrico convierte las señales eléctricas en ondas acústicas que oscilan con una frecuencia de 2 a 30 MHz. Estas ondas acústicas se transmiten al interior del organismo y se reflejan a medida que pasan a través de las distintas capas de tejidos. A su vez, las ondas acústicas reflejadas hacen vibrar el transductor que las generó. Estas vibraciones se convierten de nuevo en señales eléctricas y se envían al escáner para el procesamiento de imágenes. Los datos sobre la duración del eco, la frecuencia y la intensidad de la señal se utilizan para generar la imagen ultrasónica. Es importante destacar que la magnitud de la frecuencia de excitación es directamente proporcional a la profundidad de penetración de la onda acústica y la resolución espacial de la imagen. La ecografía Doppler puede medir el flujo y su velocidad relativa. La ecocardiografía de contraste utiliza microburbujas rellenas de gas para realzar las superficies de contacto sangremiocardio y mejorar la determinación de la perfu-

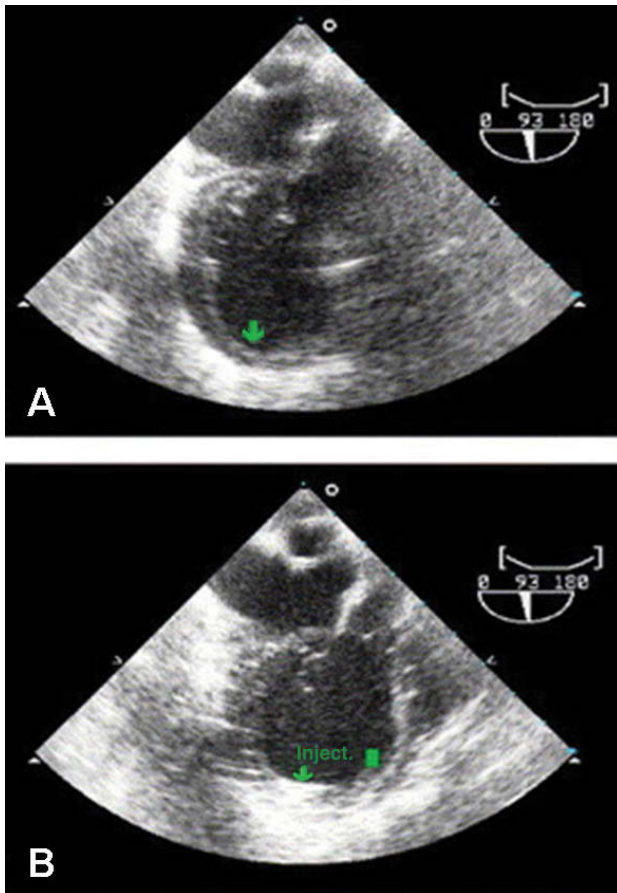
sión tisular y el flujo sanguíneo<sup>6</sup>. Recientemente se ha avanzado hacia la conjugación de microburbujas con ligandos marcados que se unen a receptores y permitirían la aplicación dirigida de agentes de contraste en las zonas afectas<sup>7</sup>.

La ecocardiografía se ha utilizado principalmente para investigar los cambios funcionales que se dan tras el trasplante de células. Jin et al<sup>8</sup> utilizaron la ultrasonografía cardiaca para mostrar que la fracción de eyección ventricular izquierda aumentaba de forma significativa en ratas postinfarto receptoras de células madre mesenquimatosas (MSC) trasplantadas en el interior de un armazón biodegradable. Wolf et al<sup>9</sup> utilizaron ultrasonidos convencionales en modo B y ecocardiografía de contraste para evaluar el tratamiento intravenoso con MSC propias y alogénicas en cerdos infartados. En este estudio, la ecografía de contraste del miocardio evidenció zonas de infarto más pequeñas y una mejora del flujo microvascular en las zonas del borde del tejido isquémico de los animales tratados. La ecocardiografía convencional puso de manifiesto un mayor acortamiento del área fraccional y una mejor sincronía cardiaca.

Diversos investigadores han comenzado también a explorar técnicas para administrar y rastrear las células mediante ultrasonidos. Bara et al<sup>10</sup> marcaron células CD133+ humanas con nanopartículas CliniMACS y utilizaron con éxito la ecocardiografía para seguir la administración y el destino de dichas células en un modelo porcino de infarto de miocardio (fig. 1)<sup>11</sup>. Asimismo, otros grupos han utilizado con éxito microburbujas con ultrasonidos para dirigir el trasplante de MSC y de células progenitoras endoteliales hacia el miocardio infartado<sup>12,13</sup>.

## RESONANCIA MAGNÉTICA

La RM es una modalidad de obtención de imágenes multipropósito cuya versatilidad es especialmente evidente en la obtención de imágenes cardiovasculares. Se utiliza con frecuencia para evaluar la anatomía cardiaca, la función ventricular, la masa miocárdica, la viabilidad miocárdica, el flujo sanguíneo, la perfusión e incluso la energía en el miocardio. De forma sencilla, la RM realiza aplicando un potente campo magnético homogéneo para alinear la magnetización nuclear de los átomos de hidrógeno o protones del agua en el organismo. Se utilizan pulsos de radiofrecuencia para excitar la magnetización, lo que conduce a la generación de una señal. Se emplea un grupo de bobinas ortogonales de gradiente para alterar el campo magnético de forma sistemática y para obtener la codificación espacial de la magnetización, lo que puede usarse para generar la imagen. Modificando los tiempos y



**Fig. 1.** Imágenes ecocardiográficas del ápex posterolateral antes (A) y después (B) de conseguir la funcionalidad de células CD133+ injertadas y marcadas magnéticamente con CliniMACs. Las células marcadas magnéticamente aparecen hiperecoicas (flechas verdes) en imágenes tomadas tras la administración. Adaptado con autorización de Ruhparwar et al<sup>11</sup>.

el orden de la secuencia de activaciones de los pulsos de radiofrecuencia y gradiente, junto con la abundancia natural y las propiedades de relajación (T1 y T2) de los *spines* nucleares de los diferentes tipos de tejido, pueden generarse imágenes de RM de diverso tipo y con diferentes contrastes.

El caballo de batalla de la RM es la cine-RM convencional, que se usa principalmente para evaluar la anatomía cardíaca y la función general. El análisis regional de parámetros, como el espesor de la pared, puede evaluarse mediante métodos tales como el modelo de 17 segmentos de la American Heart Association (AHA)<sup>14</sup>. Muchos estudios han empleado, tras la aplicación de la terapia celular, la cine-RM para evaluar los cambios en la función y el remodelado miocárdicos tras un infarto<sup>15-20</sup>. Por ejemplo, Grauss et al<sup>18</sup> han demostrado recientemente que la función ventricular izquierda (VI) mejoró y que el remodelado ventricular disminuyó en ratones postinfarto que recibieron MSC humanas forzadas a expresar el factor de transcripción car-

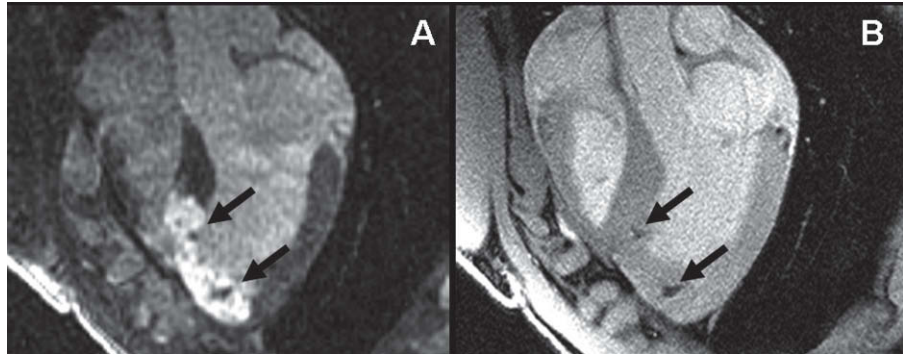
diomiogénico miocárdico. Hashemi et al<sup>19</sup> usaron la cine-RM en un estudio de determinación de dosis controlado con placebo para evaluar la seguridad de la administración endomiocárdica de MSC alogénicas en cerdos postinfarto.

Para poner de manifiesto los cambios regionales más sutiles en la función contráctil, incluida la diferenciación entre los cambios subendocárdicos y transmurales, se han aplicado técnicas como la marcación miocárdica<sup>21,22</sup>, la obtención de imágenes codificadas del desplazamiento<sup>23,24</sup> e imágenes de fase armónica<sup>25</sup> en modelos animales de enfermedad cardiovascular. En un artículo de revisión publicado por Epstein<sup>26</sup>, se puede encontrar más detalles sobre estas técnicas. Al disponer de mayor resolución para determinar la función contráctil, se han llevado a cabo estudios, como el de Amado et al<sup>27</sup>, que han permitido identificar la recuperación en función del tiempo de la contractilidad local asociada a la aparición de nuevo tejido como resultado del trasplante de MSC alogénicas en un modelo de infarto de miocardio en cerdos.

La RM con realce tardío (RT) con gadolinio se ha validado frente a la tinción histológica como un método preciso y no invasivo para determinar el tamaño del infarto<sup>28,29</sup>. Por su naturaleza, muchos estudios de investigación básica sobre el infarto de miocardio han usado la RM-RT para comparar el tamaño del infarto entre distintos grupos, así como durante el periodo de estudio<sup>15</sup>. La RM-RT comprende la administración intravenosa de un medio de contraste paramagnético (p. ej., Gd-DTPA), un tiempo de espera de 10-15 min aproximadamente para que el medio de contraste se «concentre» en el tejido infartado y se «elimine» del miocardio normal, y la obtención de imágenes usando una secuencia de RM diseñada para anular la señal en el miocardio normal y realzar el miocardio infartado, donde el medio de contraste se acumula temporalmente. En la figura 2A se presenta un ejemplo de RM-RT que muestra el miocardio infartado claramente delineado<sup>30</sup>.

La obtención de imágenes de RM dinámica de primer paso puede aplicarse de forma complementaria a la RM-RT como medio para medir la perfusión miocárdica. La perfusión del miocardio puede evaluarse cualitativa y cuantitativamente utilizando secuencias de imágenes de RM dedicada, fuertemente ponderada en T1 y sensible a la perfusión durante la infusión inicial de medios de contraste con gadolinio<sup>31</sup>. Un reciente estudio de Schuleri et al<sup>32</sup> demostró mediante RM con perfusión de primer paso, en cerdos postinfarto tratados con inyecciones intramiocárdicas de MSC alogénicas, que hay un aumento temprano de la perfusión miocárdica que precede a un aumento posterior de la función contráctil, así como una reducción de la apop-

**Fig. 2.** Resonancia magnética (RM) retardada con contraste realizado en el eje largo (A) y RM ponderada con gradiente de eco en T2\* (B) de células madre mesenquimatosas marcadas para-magnéticamente en las 24 h posteriores a la inyección intramiocárdica. Se observaron dos lugares de inyección de las células marcadas con óxido de hierro como lesiones hipointensas (flechas) en la RM con gradiente de eco de alta resolución. Estos lugares de inyección también se observan en la RM retardada con contraste realzado, y se localizan con claridad en el miocardio infartado. Adaptado de Kraitchman et al<sup>30</sup>.



tos. Dichos resultados podrían proporcionar información importante sobre el mecanismo por el cual actúa la terapia celular para tratar la enfermedad.

Aunque generalmente no se la considera una técnica de obtención de imágenes, la espectroscopia por RM es una técnica análoga a la RM. La espectroscopia por RM permite analizar los cambios energéticos en el miocardio y puede utilizarse con el mismo equipo de obtención de imágenes. Zeng et al<sup>33</sup> observaron, mediante espectroscopia por RM con <sup>31</sup>P, que es posible mejorar significativamente la bioenergética postinfarto en el corazón de cerdo (determinada por el índice subendocárdico fosfocreatina/adenosintrifosfato) trasplantando células progenitoras pluripotenciales de médula ósea en zonas fronterizas de miocardio. Además, pudieron demostrar que dicha mejoría en la bioenergética estaba respaldada por mejoras de la contractilidad regional y general determinada por cine-RM. Se han comunicado resultados similares mediante trasplante de MSC autólogas<sup>34</sup>.

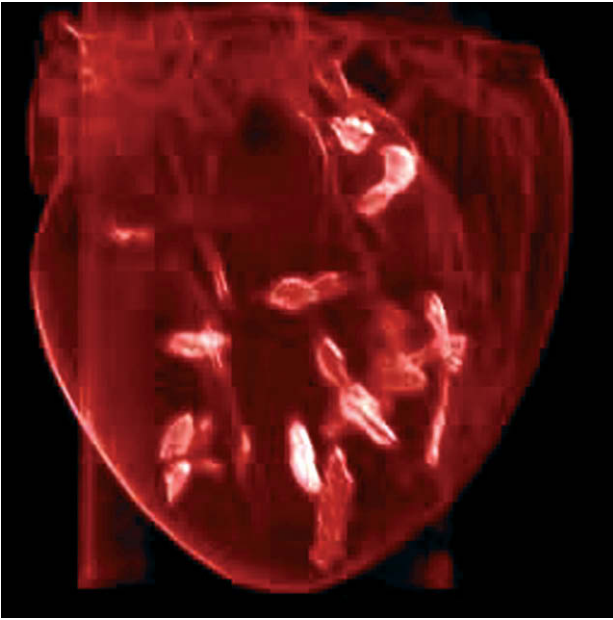
La evaluación de la respuesta anatómica y fisiológica a la terapia celular es tan importante como confirmar la funcionalidad del injerto y estudiar el destino de las células. Las nanopartículas de óxido de hierro se han utilizado ampliamente para marcar y seguir las células con RM *in vivo*<sup>35,36</sup>. Sus propiedades superparamagnéticas, cuando las partículas pasan al interior celular, hacen que se pueda ver dichas células como hipointensidades en las imágenes convencionales de RM. La obtención de imágenes ponderadas en T2\* es el método más habitual para visualizar estos grupos celulares hipointensos. Los estudios sobre toxicidad han confirmado que dicha marcación con óxido de hierro no tiene ningún o casi ningún efecto negativo en el metabolismo o la viabilidad celular<sup>35,37</sup>. Se han realizado numerosos estudios con nanopartículas de óxido de hierro para marcar las células antes del trasplante<sup>30,38,39</sup>. Uno de los primeros estudios realizados en cerdos postinfarto demostró que podían visualizarse con claridad las MSC marcadas con hierro inmediatamente des-

pues del trasplante y en tiempos establecidos hasta varias semanas más tarde (fig. 2B)<sup>30</sup>. Recientemente la imagen con contraste positivo ha cobrado interés como un posible método para mejorar la visualización y la sensibilidad<sup>40-42</sup>.

Al obtener una imagen clara de la anatomía cardíaca y una representación del tejido infartado, además de la visualización de la terapia con células marcadas, la RM aporta un amplio espectro de herramientas para evaluar la eficacia y el injerto/destino de las células. Como parte del equipo de diagnóstico, la fluoroscopia por RM se ha utilizado para que las terapias celulares sirvieran de guía en tiempo real en sus ubicaciones diana como el tejido infartado y sus zonas fronterizas<sup>43-47</sup>. Esta capacidad permite la administración más precisa y concentrada de las terapias celulares en el tejido enfermo que con los métodos intravenosos o intraarteriales y promete ser un método más eficaz para la administración de la terapia. Sin embargo, la escasa disponibilidad en el mercado de catéteres compatibles con la RM, visibles por RM y que permitan administrar dichas inyecciones impide el uso extendido de estas técnicas.

## TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA

La TC cardíaca se usa en la práctica clínica para obtener imágenes de las arterias coronarias y para detectar aneurismas y disecciones aórticas, embolias pulmonares y afección del pericardio. Básicamente, la TC cardíaca es un método radiográfico que proporciona rápidamente imágenes tridimensionales del corazón. A menudo se utiliza con medios de contraste yodados para ver más claramente los vasos sanguíneos. El escáner de TC consta de un anillo o soporte con un tubo de rayos X montado frente a un detector. Durante la realización del estudio, el tubo y el detector giran alrededor del anillo. A medida que el tubo gira, emite rayos X que penetran y son absorbidos por el sujeto situado en el centro del escáner. El detector capta los rayos X no absorbidos. A continuación, la señal detectada se procesa mediante al-



**Fig. 3.** Tomografía computarizada de un corazón extirpado tras el trasplante de células madre mesenquimatosas encapsuladas con sulfato de bario. Las múltiples inyecciones de las microcápsulas son claramente visibles a través del corazón.

goritmos de reconstrucción avanzados para generar una imagen de TC tridimensional. Para la TC cardíaca puede utilizarse una señal de ECG de forma prospectiva para dar paso o iniciar la adquisición de la imagen, o bien para realizar una reconstrucción retrospectiva.

Al igual que en la RM, se validaron equipos de TC con multidetectores realzados con contraste para mejorar la definición de las imágenes<sup>48</sup>. Posteriormente, Amado et al<sup>27</sup> usaron la TC cardíaca en combinación con las técnicas de RM antes descritas para estudiar la regeneración cardíaca tras el trasplante intramiocárdico de MSC en cerdos postinfarto. En un estudio de 8 semanas de duración, la TC con contraste mostró un aumento del espesor del borde del tejido subendocárdico y una reducción del tejido cicatricial. Estos datos fueron respaldados por la presencia de una recuperación de la contractilidad activa en las regiones asociadas determinada mediante RM con marcadores. Por otra parte, la anatomía patológica confirmó que este borde de tejido contenía miocitos morfológicamente normales.

Recientemente se han explorado técnicas de microencapsulación en combinación con medios de contraste<sup>49,50</sup> para obtener imágenes como método de inmunoprotección celular, al tiempo que proporcionan un entorno que permite el libre paso de oxígeno y nutrientes hacia las células y de los subproductos hacia el exterior de éstas. Utilizando medios de contraste radiopacos, Barnett et al<sup>49</sup> marcaron y encapsularon células de islotes pancreáticos y de-

mostraron capacidad de respuesta eficaz a la glucosa. Los primeros estudios que utilizaron esta técnica con células madre mesenquimatosas<sup>51-55</sup> resultaron prometedores, especialmente para aumentar la angiogénesis, como se demostró en un modelo de arteriopatía periférica en conejos. En la figura 3 se muestra un ejemplo de imágenes obtenidas mediante TC de dichas microcápsulas visibles con rayos X trasplantadas en un corazón *ex vivo*.

## IMÁGENES DE MEDICINA NUCLEAR

La medicina nuclear utiliza isótopos radiactivos para seguir los procesos biológicos y metabólicos celulares y subcelulares. En general, estos isótopos radiactivos o radionúclidos se encuentran unidos químicamente a complejos diseñados para detectar específicamente determinados procesos fisiológicos. Estos complejos radiactivos, denominados trazadores, se introducen en el cuerpo antes de obtener la imagen (a menudo mediante inyección intravenosa). En función del diseño del trazador, el proceso patológico puede ser identificado por una captación elevada del trazador radiactivo o por su ausencia. Las dos técnicas de obtención de imagen más utilizadas en medicina nuclear topográfica son la PET y la SPECT.

### Tomografía por emisión de positrones

La PET funciona según el siguiente principio: los trazadores emiten positrones que aniquilan los electrones cercanos, lo que da lugar a la emisión de dos fotones gamma (511 keV) en direcciones opuestas. La detección coincidente de dichas emisiones por múltiples detectores en el escáner de PET permite localizar directamente los fenómenos de aniquilación. Para generar las imágenes tridimensionales de PET se emplean análisis estadísticos y una reconstrucción tomográfica. Los radionúclidos de la PET tienen una vida media corta (de unos 20 min para el <sup>11</sup>C a unos 110 min para el <sup>18</sup>F y hasta 4,2 días para el <sup>124</sup>I), por lo que a menudo requieren la disponibilidad del ciclotrón que los produce en el mismo lugar o en un lugar próximo. Además, su corta semivida requiere que los trazadores alcancen su objetivo muy rápidamente.

La molécula trazadora de uso más frecuente es la fluorodesoxiglucosa (FDG), un azúcar marcado con el isótopo <sup>18</sup>F utilizado para estudiar el metabolismo de la glucosa. En cardiología clínica, la PET con <sup>18</sup>F-FDG se emplea muy a menudo para detectar el «miocardio hibernado» o tejido cardíaco viable pero con disminución de su función metabólica. Clínicamente, este miocardio hibernado se considera recuperable si en un corto plazo se logra la revascularización.

Aunque se haya utilizado ampliamente para obtener imágenes de viabilidad, la PET también permite determinar la perfusión, la función contráctil, el sustrato metabólico, el consumo de oxígeno, la innervación autonómica y la angiogénesis<sup>56</sup>. Por lo tanto, la imagen de PET puede tener un valioso papel en la evaluación exhaustiva de la respuesta terapéutica de los tratamientos celulares.

Quizá el punto más fuerte de la obtención de imágenes con PET en el contexto de la terapia celular es su capacidad para el rastreo celular. La marcación radiactiva de las células para obtener imágenes de PET puede realizarse directamente con radionúclidos o mediante un gen informador. La marcación directa requiere incubar las células con el radiotrazador para lograr una captación celular suficiente. Recientemente, la <sup>18</sup>F-FDG se ha utilizado con éxito para marcar y realizar el seguimiento de la distribución tisular de células mononucleares y células progenitoras de médula ósea autóloga tras el trasplante intracoronario en corazones de cerdo postinfarto<sup>57-59</sup>. El éxito de la PET con marcación directa resulta muy prometedor, pero se encuentra limitado principalmente por la corta semivida del <sup>18</sup>F. Hasta la fecha, se ha obtenido un éxito limitado con la marcación directa usando isótopos de semivida más prolongada. Por otra parte, al igual que en la marcación magnética, la detección de células madre marcadas directamente con radionúclidos se verá dificultada si hay una rápida proliferación celular.

Los recientes avances en la marcación celular con genes informadores amplían las posibilidades de las imágenes de PET más allá de la monitorización a corto plazo. Los genes informadores codifican la síntesis de sustancias tales como enzimas o receptores, que se unirán a una sonda informadora. Para la marcación, normalmente se introduce un gen informador en las células mediante transfección de forma exógena. Tras el trasplante, la obtención de una imagen de PET con una sonda informadora específica marcada con un radionúclido permite la detección de las células. Para más información acerca de la marcación celular con genes informadores, se puede consultar Bengel et al<sup>60</sup>. Hasta la fecha, existen tres tipos de genes informadores, basados en enzimas, en receptores y en proteínas transportadoras. Cada planteamiento posee diferentes ventajas e inconvenientes, como señalan Zhang et al<sup>61</sup>. Actualmente, la técnica más habitual de marcación celular con genes informadores para obtener imágenes de PET es la basada en enzimas que utiliza el gen mutante de la timidincinasa de virus del herpes simple tipo 1 (*HSV1-tk*) en combinación con diferentes radionúclidos trazadores con <sup>18</sup>F. Por ejemplo, Wu et al<sup>62</sup> publicaron un estudio en el que usaron *HSV1-sr39tk* como gen infor-

mador para PET para realizar el seguimiento celular tras el trasplante intramiocárdico de cardiomioblastos de rata embrionaria. En ese estudio demostraron la supervivencia a largo plazo de las células a los 16 días. En un estudio posterior de Cao et al<sup>63</sup> se desarrolló y se utilizó un nuevo gen informador de fusión triple para obtener imágenes de fluorescencia, bioluminiscencia y PET para estudiar la supervivencia celular, la proliferación y la migración de las células madre embrionarias tras su administración en miocardio de rata. Las imágenes de PET obtenidas con 9-[4-<sup>18</sup>F-fluoro-3-(hidroximetil)butil]guanina (<sup>18</sup>F-FHBG) confirmaron la supervivencia y la proliferación indicada por un aumento de la señal de la PET (y por bioluminiscencia) durante las 4 semanas de duración del estudio. Las imágenes de fusión de <sup>18</sup>F-FHBG (células marcadas) y <sup>18</sup>F-FDG (viabilidad miocárdica) obtenidas en este estudio demuestran la localización celular mediante PET (fig. 4).

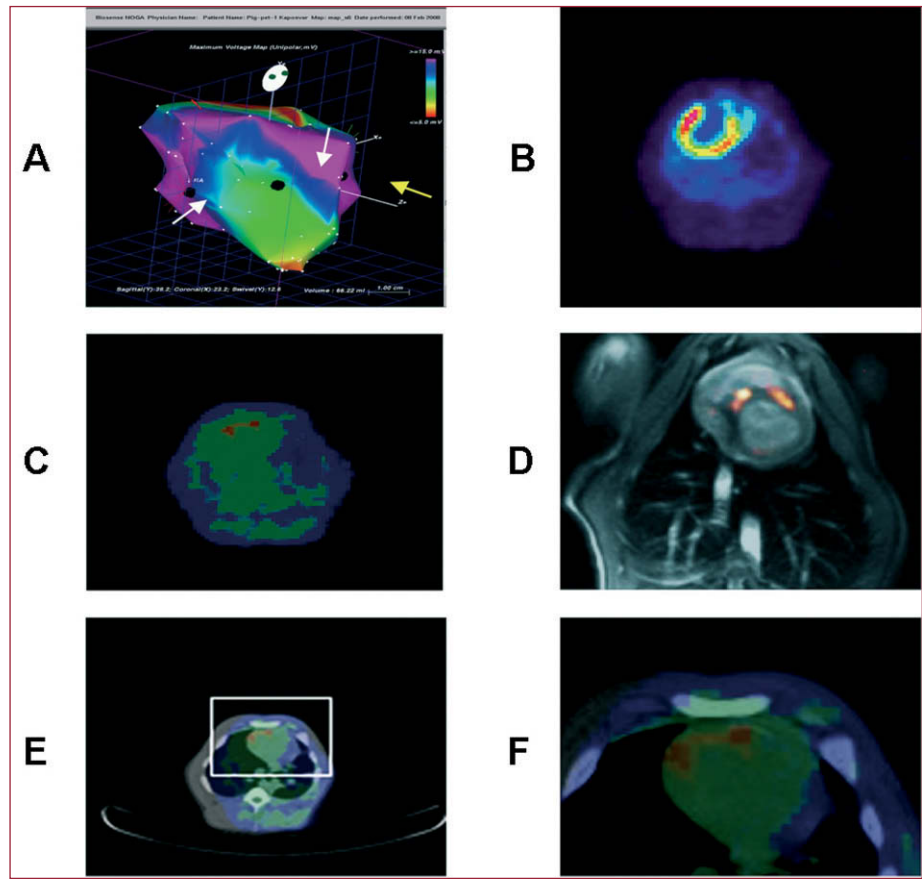
Recientemente se han usado genes informadores de PET en un estudio de gran envergadura en modelo animal de infarto miocárdico reperfundido para seguir la biodistribución tras la inyección miocárdica directa, usando un sistema de cartografía electromecánica<sup>64</sup>. Esos estudios se llevaron a cabo en un escáner de PET clínico con resultados prometedores que animan a la realización de estudios similares en pacientes en un futuro.

### Tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT)

A diferencia de las imágenes de PET, la SPECT opera detectando directamente la radiación gamma emitida por el trazador. Durante la adquisición de las imágenes mediante SPECT, la cámara gamma gira alrededor del sujeto obteniendo las imágenes proyectadas. Se usa una retroproyección filtrada y una reconstrucción iterativa para crear un volumen tridimensional de los datos proyectados en dos dimensiones. La sincronización de la imagen de SPECT con el electrocardiograma se usa normalmente para cuantificar la perfusión, el espesor y la contractilidad miocárdicos, así como otros parámetros de la función ventricular. La imagen de SPECT también puede utilizarse para evaluar la viabilidad, el sustrato metabólico y la muerte celular<sup>65</sup>, datos muy importantes a la hora de valorar la eficacia de la terapia celular y comprender los mecanismos por los que la terapia celular influye en el tratamiento de la enfermedad.

Al igual que en las imágenes de PET, la marcación de células para SPECT puede dividirse en técnicas de marcación directa y con genes informadores. La directa requiere la incubación de células con isótopos radiactivos como <sup>111</sup>In-oxina; se ha

**Fig. 4.** Cartografía endocárdica de un corazón de cerdo 16 días tras infarto de miocardio. A: mapa de voltaje con los lugares (puntos negros) de las inyecciones intramiocárdicas guiadas NOGA (Cordis, Johnson & Johnson) de MSC transfectadas con *HSV1-tk* (flechas blancas en la zona fronteriza del infarto) y de MSC no transfectadas (flecha amarilla en la pared posterior no infartada). La viabilidad normal se representa en azul y rosa. Los colores amarillo y verde representan una menor viabilidad en la pared mediobasal anterior y el rojo representa la inviabilidad en el ápex cardiaco. B:  $^{13}\text{N}$  amonio; PET con una imagen de transmisión de corazón de cerdo (en decúbito supino) 16 días después de un infarto agudo indicando un defecto de perfusión en la pared anterior y el ápex. C: captación del trazador  $^{18}\text{F}$ -FHBG en los dos puntos de inyección, representando la ubicación de las MSC transfectadas 8 h después de la administración de las células en el interior del miocardio (imagen de transmisión de PET, cerdo en decúbito supino). No se observa actividad en la pared posterior, donde no se inyectaron MSC transfectadas. D: imagen de fusión de RM (en escala de grises) y PET con  $^{18}\text{F}$ -FHBG PET (escala de color) que indica la acumulación de trazador sólo donde se inyectó intramiocárdicamente un vector lentiviral para la expresión transgénica de la proteína de trifusión renilla luciferasa, proteína fluorescente roja y timidincinasa truncada de herpes simple (VI-RL-RFP-TTK-MS). E: imagen híbrida de PET-TC con  $^{18}\text{F}$ -FHBG para localizar las células inyectadas en la pared anterior. F: ampliación de una región de interés de la TC con  $^{18}\text{F}$ -FHBG. Reproducido con autorización de Gyöngösi et al<sup>64</sup>.  $^{18}\text{F}$ -FHBG: 9-[4- $^{18}\text{F}$ -fluoro-3-(hidroximetil)butil]guanina; MSC: células madre mesenquimatosas; PET: tomografía por emisión de positrones; RM: resonancia magnética; TC: tomografía computarizada.

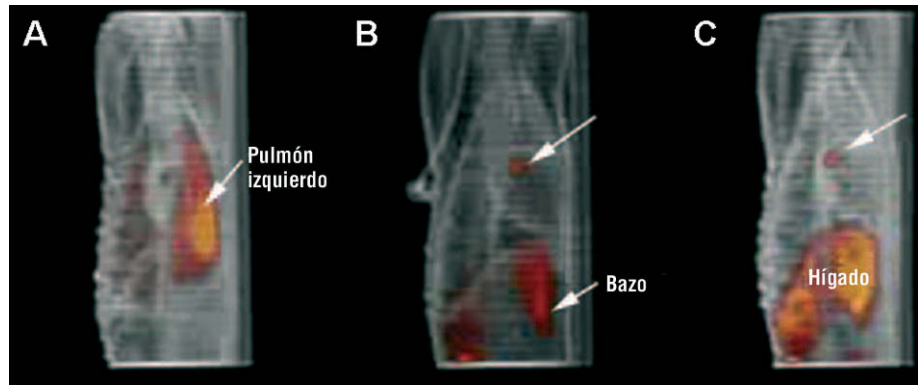


demostrado que éste no afecta a la capacidad proliferativa de las células ni a los marcadores de superficie o intracelulares<sup>65</sup>. En general, los radiomarcadores para SPECT presentan diversas ventajas respecto a los trazadores de PET, como una semivida más larga, una mayor eficiencia de la marcación y una mayor estabilidad<sup>61</sup>. Las imágenes de SPECT se han utilizado para monitorizar y rastrear la distribución de la terapia con células marcadas directamente con radionúclidos<sup>66</sup>. En este estudio, las MSC se marcaron directamente con  $^{111}\text{In}$  (semivida de 67 h) y nanopartículas de óxido de hierro. Las células se administraron por vía intravenosa a perros 3 días después de provocar infartos de miocardio reperfundidos. Las imágenes de SPECT se obtuvieron de forma seriada hasta 8 días después de la inyección. Aunque la captación inicial tuvo lugar principalmente en los pulmones, con una redistribución significativa en el hígado, en varios de los animales infartados se observó una captación focal y difusa en el corazón (fig. 5), sin que se observara ninguna detección mediante imágenes de RM. Este estudio demuestra el valor de las imá-

genes de SPECT para seguir la biodistribución y el destino de las células tras su administración intravenosa, y además muestra mayor sensibilidad para visualizar las células marcadas en comparación con la RM.

La marcación con genes informadores para SPECT se lleva a cabo de forma similar que para las imágenes PET, sustituyendo simplemente el sustrato marcado con un isótopo radiactivo emisor de fotón único<sup>67,68</sup>. Por ejemplo, Stodilka et al<sup>69</sup> usaron MSC marcadas con  $^{111}\text{In}$  y con un gen informador introducido mediante transfección, que se continuó con la detección sistémica de una sonda informadora marcada con  $^{131}\text{I}$  para rastrear las células en un miocardio infartado de perro. Mediante una técnica de doble isótopo, pudieron corregir efectos físicos tales como intercomunicación, dispersión y atenuación, realizando posteriormente una evaluación cuantitativa de la expresión celular. En otro estudio, la proteína transportadora de yoduro de sodio (NIS) fue transducida al interior de células madre procedentes de tejido cardiaco usando vectores lentivirales, y se utilizaron  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (SPECT) y

**Fig. 5.** Representaciones de volumen fundido de tomografías por emisión de fotón único (rojo) con tomografías computarizadas (gris) de un perro inmediatamente (A), 24 h (B) y 5 días (C) después de la administración intravenosa de células madre mesenquimatosas de médula ósea marcadas con  $^{111}\text{In}$ -oxina. La captación inicial (A) tiene lugar predominantemente en los pulmones y se redistribuye hacia el bazo y el corazón a las 24 h (B). A los 5 días de su administración, las células permanecen visibles en el corazón y después se redistribuyen al hígado. Reproducido con autorización de Kraitchman et al<sup>52</sup>.



$^{124}\text{I}$  (PET) para detectar y localizar las células madre *in vivo*<sup>70</sup>.

Puesto que las imágenes de PET y SPECT no captan necesariamente la anatomía, a menudo se combinan con otras técnicas de obtención de imágenes como TC o RM para localizar mejor los resultados. Recientemente, la comunidad científica y las empresas han comenzado a integrar estas imágenes de medicina nuclear con las imágenes de TC y RM para obtener las imágenes de forma más precisa. Asimismo, las imágenes anatómicas pueden utilizarse para corregir la atenuación y proporcionar así una cuantificación más precisa de la actividad metabólica.

## CONCLUSIONES

Las técnicas no invasivas de obtención de imágenes cardiovasculares tales como ecocardiografía, RM, TC, PET y SPECT resultan de un valor inestimable en la investigación básica. Al presentar su potencial en el contexto de su aplicación a las terapias celulares, esta revisión no ha pretendido profundizar en el conjunto de todas sus posibilidades, aunque podría servir de marco para comenzar a entender su importancia. Por otra parte, hay que destacar que ya existen o se vislumbran muchas otras técnicas no invasivas que prometen seguir impulsando la utilidad de las técnicas de imagen en la investigación básica<sup>71</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*. 2004;364:141-8.
2. Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, Bruyne BD, Bondt PD, et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells

promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation*. 2005;112 Suppl 9:1178-83.

3. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J*. 2006;27:2775-83.
4. Dill T, Schächinger V, Rolf A, Möllmann S, Thiele H, Tillmanns H, et al. Intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells improves left ventricular function in patients at risk for adverse remodeling after acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the reinfusion of enriched progenitor cells and infarct remodeling in acute myocardial infarction study (REPAIR-AMI) cardiac magnetic resonance imaging substudy. *Am Heart J*. 2009;157:541-7.
5. Dimmeler S, Zeiher AM. Cell therapy of acute myocardial infarction: Open questions. *Cardiology*. 2008;113:155-60.
6. Lang RM, Mor-Avi V. Clinical utility of contrast-enhanced echocardiography. *Clin Cardiol*. 2006;29(9 Suppl 1):115-25.
7. Villanueva FS. Molecular imaging of cardiovascular disease using ultrasound. *J Nucl Cardiol*. 2008;15:576-86.
8. Jin J, Jeong SI, Shin YM, Lim KS, Soo Shin H, Lee YM, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells within a poly(lactide-co-epsilon-caprolactone) scaffold improves cardiac function in a rat myocardial infarction model. *Eur J Heart Fail*. 2009;11:147-53.
9. Wolf D, Reinhard A, Krause U, Seckinger A, Katus HA, Kuecherer H, et al. Stem cell therapy improves myocardial perfusion and cardiac synchronicity: new application for echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2007;20:512-20.
10. Bara C, Ghodsizad A, Niehaus M, Makoui M, Piechaczek C, Martin U, et al. In vivo echocardiographic imaging of transplanted human adult stem cells in the myocardium labeled with clinically applicable CliniMACs nanoparticles. *J Am Soc Echocardiogr*. 2006;19:563-8.
11. Ruhparwar A, Ghodsizad A, Lichtenberg A and Karcik M. Visualization of transplanted cells within the myocardium. *Int J Cardiol*. 2008;124:22-26.
12. Zen K, Okigaki M, Hosokawa Y, Adachi Y, Nozawa Y, Takamiya M, et al. Myocardium-targeted delivery of endothelial progenitor cells by ultrasound-mediated microbubble destruction improves cardiac function via an angiogenic response. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;40:799-809.
13. Song X, Zhu H, Jin L, Wang J, Yang Q, Jin P, et al. Ultrasound-mediated microbubble destruction enhances the efficacy of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation and cardiac function. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36:267-71.



14. Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, Jacobs AK, Kaul S, Laskey WK, et al. Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from the cardiac imaging committee of the council on clinical cardiology of the American Heart Association. *Circulation*. 2002;105:539-42.
15. Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, John MS, Xie JS, Cattaneo S, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:11474-9.
16. Arai T, Kofidis T, Bulte JWM, De Bruin J, Venook RD, Berry GJ, et al. Dual in vivo magnetic resonance evaluation of magnetically labeled mouse embryonic stem cells and cardiac function at 1.5 T. *Magn Reson Med*. 2006;55:203-9.
17. Moelker AD, Baks T, Van den Bos EJ, Van Geuns RJ, De Feyter PJ, Duncker DJ, et al. Reduction in infarct size, but no functional improvement after bone marrow cell administration in a porcine model of reperfused myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2006;27:3057-64.
18. Grauss RW, Van Tuyn J, Steendijk P, Winter EM, Pijnappels DA, Hogers B, et al. Forced myocardin expression enhances the therapeutic effect of human mesenchymal stem cells after transplantation in ischemic mouse hearts. *Stem Cells*. 2008;26:1083-93.
19. Hashemi SM, Ghods S, Kolodgie FD, Parcham-Azad K, Keane M, Hamamdzic D, et al. A placebo controlled, dose-ranging, safety study of allogenic mesenchymal stem cells injected by endomyocardial delivery after an acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2008;29:251-9.
20. Ziebart T, Yoon CH, Trepels T, Wietelmann A, Braun T, Kiessling F, et al. Sustained persistence of transplanted proangiogenic cells contributes to neovascularization and cardiac function after ischemia. *Circ Res*. 2008;103:1327-34.
21. Zerhouni EA, Parish DM, Rogers WJ, Yang A, Shapiro EP. Human heart: tagging with MR imaging—a method for noninvasive assessment of myocardial motion. *Radiology*. 1988;169:59-63.
22. Axel L, Dougherty L. MR imaging of motion with spatial modulation of magnetization. *Radiology*. 1989;171:841-5.
23. Aletras AH, Ding S, Balaban RS, Wen H. DENSE: displacement encoding with stimulated echoes in cardiac functional MRI. *J Magn Reson*. 1999;137:247-52.
24. Gilson WD, Yang Z, French BA, Epstein FH. Complementary displacement-encoded MRI for contrast-enhanced infarct detection and quantification of myocardial function in mice. *Magn Reson Med*. 2004;51:744-52.
25. Garot J, Bluemke DA, Osman NF, Rochitte CE, McVeigh ER, Zerhouni EA, et al. Fast determination of regional myocardial strain fields from tagged cardiac images using harmonic phase MRI. *Circulation*. 2000;101:981-8.
26. Epstein FH. MR in mouse models of cardiac disease. *NMR Biomed*. 2007;20:238-55.
27. Amado LC, Schuleri KH, Saliaris AP, Boyle AJ, Helm R, Oskouei B, et al. Multimodality noninvasive imaging demonstrates in vivo cardiac regeneration after mesenchymal stem cell therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:2116-24.
28. Kim RJ, Fieno DS, Parrish TB, Harris K, Chen EL, Simonetti O, et al. Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function. *Circulation*. 1999;100:1992-2002.
29. Yang Z, Berr SS, Gilson WD, Toufektsian MC, French BA. Simultaneous evaluation of infarct size and cardiac function in intact mice by contrast-enhanced cardiac magnetic resonance imaging reveals contractile dysfunction in noninfarcted regions early after myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:1161-7.
30. Kraitchman DL, Heldman AW, Atalar E, Amado LC, Martin BJ, Pittenger MF, et al. In vivo magnetic resonance imaging of mesenchymal stem cells in myocardial infarction. *Circulation*. 2003;107:2290-3.
31. Gerber BL, Raman SV, Nayak K, Epstein FH, Ferreira P, Axel L, et al. Myocardial first-pass perfusion cardiovascular magnetic resonance: history, theory, and current state of the art. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2008;10:18.
32. Schuleri KH, Amado LC, Boyle AJ, Centola M, Saliaris AP, Gutman MR, et al. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294:H2002-11.
33. Zeng L, Hu Q, Wang X, Mansoor A, Lee J, Feygin J, et al. Bioenergetic and functional consequences of bone marrow-derived multipotent progenitor cell transplantation in hearts with postinfarction left ventricular remodeling. *Circulation*. 2007;115:1866-75.
34. Feygin J, Mansoor A, Eckman P, Swingen C, Zhang J. Functional and bioenergetic modulations in the infarct border zone following autologous mesenchymal stem cell transplantation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H1772-80.
35. Bulte JWM, Kraitchman DL. Monitoring cell therapy using iron oxide MR contrast agents. *Curr Pharm Biotechnol*. 2004;5:567-84.
36. Budde MD, Frank JA. Magnetic tagging of therapeutic cells for MRI. *J Nucl Med*. 2009;50:171-4.
37. Bulte JWM, Kraitchman DL. Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging. *NMR Biomed*. 2004;17:484-99.
38. Hill JM, Dick AJ, Raman VK, Thompson RB, Yu ZX, Hinds KA, et al. Serial cardiac magnetic resonance imaging of injected mesenchymal stem cells. *Circulation*. 2003;108:1009-14.
39. Baklanov DV, Demuinck ED, Thompson CA, Pearlman JD. Novel double contrast MRI technique for intramyocardial detection of percutaneously transplanted autologous cells. *Magn Reson Med*. 2004;52:1438-42.
40. Stuber M, Gilson WD, Schär M, Kedziorek DA, Hofmann LV, Shah S, et al. Positive contrast visualization of iron oxide-labeled stem cells using inversion-recovery with on-resonant water suppression (IRON). *Magn Reson Med*. 2007;58:1072-7.
41. Liu W, Dahnke H, Jordan EK, Schaeffter T, Frank JA. In vivo MRI using positive-contrast techniques in detection of cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *NMR Biomed*. 2008;21:242-50.
42. Dahnke H, Liu W, Herzka D, Frank JA, Schaeffter T. Susceptibility gradient mapping (SGM): a new post-processing method for positive contrast generation applied to superparamagnetic iron oxide particle (SPIO)-labeled cells. *Magn Reson Med*. 2008;60:595-603.
43. Rickers C, Gallegos R, Seethamraju RT, Wang X, Swingen C, Jayaswal A, et al. Applications of magnetic resonance imaging for cardiac stem cell therapy. *J Interv Cardiol*. 2004;17:37-46.
44. Kraitchman DL, Gilson WD, Lorenz CH. Stem cell therapy: MRI guidance and monitoring. *J Magn Reson Imaging*. 2008;27:299-310.
45. Lederman RJ, Guttman MA, Peters DC, Thompson RB, Sorger JM, Dick AJ, et al. Catheter-based endomyocardial injection with real-time magnetic resonance imaging. *Circulation*. 2002;105:1282-4.
46. Dick AJ, Guttman MA, Raman VK, Peters DC, Pessanha BSS, Hill JM, et al. Magnetic resonance fluoroscopy allows targeted delivery of mesenchymal stem cells to infarct borders in swine. *Circulation*. 2003;108:2899-904.
47. Saeed M, Martin AJ, Lee RJ, Weber O, Revel D, Saloner D, et al. MR guidance of targeted injections into border and core of scarred myocardium in pigs. *Radiology*. 2006;240:419-26.
48. Lardo AC, Cordeiro MAS, Silva C, Amado LC, George RT, Saliaris AP, et al. Contrast-enhanced multi-detector computed tomography viability imaging after myocardial infarction: characterization of myocyte death, microvascular obstruction, and chronic scar. *Circulation*. 2006;113:394-404.
49. Barnett BP, Kraitchman DL, Lauzon C, Magee CA, Walczak P, Gilson WD, et al. Radiopaque alginate microcapsules

- for x-ray visualization and immunoprotection of cellular therapeutics. *Mol Pharm*. 2006;3:531-38.
50. Barnett BP, Arepally A, Karmarkar PV, Qian D, Gilson WD, Walczak P, et al. Magnetic resonance-guided, real-time targeted delivery and imaging of magnetocapsules immunoprotecting pancreatic islet cells. *Nat Med*. 2007;13:986-91.
  51. Kraitchman DL, Kedziorek DA, Cosby K, Gilson WD, Huang G, Kohl T, et al. X-ray visible stem cell therapy enhances angiogenesis in a rabbit model of peripheral arterial disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:A315.
  52. Kraitchman DL, Bulte JW. In vivo imaging of stem cells and beta cells using direct cell labeling and reporter gene methods. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 [Epub ahead of print].
  53. Kedziorek DA, Walczak P, Fu Y, Ehtiati T, Brost AB, Azene N, et al. Precise targeting of x-ray-visible microencapsulated mesenchymal stem cells using c-arm CT for interrogation of a bioluminescent reporter gene probe. *J Nucl Med*. 2009;50:657.
  54. Tsui BMW, Kraitchman DL. Recent advances in small-animal cardiovascular imaging. *J Nucl Med*. 2009;50:667-70.
  55. Nahrendorf M, Sosnovik D, French B, Swirski F, Bengel F, Sadeghi M, et al. Multimodality cardiovascular molecular imaging —part II. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;2:56-70.
  56. Bengel FM. Nuclear imaging in cardiac cell therapy. *Heart Fail Rev*. 2006;11:325-32.
  57. Doyle B, Kemp BJ, Chareonthaitawee P, Reed C, Schmeckpeper J, Sorajja P, et al. Dynamic tracking during intracoronary injection of 18F-FDG-labeled progenitor cell therapy for acute myocardial infarction. *J Nucl Med*. 2007;48:1708-14.
  58. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation*. 2005;111:2198-202.
  59. Qian H, Yang Y, Huang J, Gao R, Dou K, Yang G, et al. Intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells radiolabeled by 18F-fluoro-deoxy-glucose: tissue distribution and impact on post-infarct swine hearts. *J Cell Biochem*. 2007;102:64-74.
  60. Bengel FM, Schachinger V, Dimmeler S. Cell-based therapies and imaging in cardiology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2005;32 Suppl 2:S404-16.
  61. Zhang Y, Ruel M, Beanlands RSB, DeKemp RA, Suuronen EJ, DaSilva JN. Tracking stem cell therapy in the myocardium: applications of positron emission tomography. *Curr Pharm Des*. 2008;14:3835-53.
  62. Wu JC, Chen IY, Sundaresan G, Min JJ, De A, Qiao JH, et al. Molecular imaging of cardiac cell transplantation in living animals using optical bioluminescence and positron emission tomography. *Circulation*. 2003;108:1302-5.
  63. Cao F, Lin S, Xie X, Ray P, Patel M, Zhang X, et al. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. *Circulation*. 2006;113:1005-14.
  64. Gyöngysi M, Blanco J, Marian T, Trón L, Petneházy, Petrasi Z, et al. Serial non-invasive in vivo positron emission tomographic (PET) tracking of percutaneously intramyocardially injected autologous porcine mesenchymal stem cells modified for transgene reporter gene expression. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2009;1:94-103.
  65. Bindslev L, Haack-Sørensen M, Bisgaard K, Kragh L, Mortensen S, Hesse B, et al. Labelling of human mesenchymal stem cells with indium-111 for SPECT imaging: effect on cell proliferation and differentiation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;33:1171-7.
  66. Kraitchman DL, Tatsumi M, Gilson WD, Ishimori T, Kedziorek D, Walczak P, et al. Dynamic imaging of allogeneic mesenchymal stem cells trafficking to myocardial infarction. *Circulation*. 2005;112:1451-61.
  67. Acton PD, Zhou R. Imaging reporter genes for cell tracking with PET and SPECT. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2005;49:349-60.
  68. Inubushi M, Tamaki N. Radionuclide reporter gene imaging for cardiac gene therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34 Suppl 1:S27-33.
  69. Stodilka RZ, Blackwood KJ, Kong H, Prato FS. A method for quantitative cell tracking using SPECT for the evaluation of myocardial stem cell therapy. *Nucl Med Commun*. 2006;27:807-13.
  70. Terrovitis J, Kwok KF, Lautamäki R, Engles JM, Barth AS, Kizana E, et al. Ectopic expression of the sodium-iodide symporter enables imaging of transplanted cardiac stem cells in vivo by single-photon emission computed tomography or positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:1652-60.
  71. McVeigh ER. Emerging imaging techniques. *Circ Res*. 2006;98:879-86.